

Notice utilisateur

Trousse Happy Taq

Lire attentivement les instructions figurant dans le manuel d'utilisation du ou des système(s) et sur les étiquetages, et/ou dans la notice d'utilisation du réactif.

RÉF 70977**Contenu**

- 50 µl **Taq polymérase**, prête à l'emploi, 250 unités (5 unités/µl)
- 1 ml **tampon de réaction PCR** 10x (sans MgCl₂), contient du (NH₄)₂SO₄, du Tris-HCl, du Tween 20
- 1 ml **MgCl₂** (50 mM)

Spécifications

Enzyme recombinante, ADN-polymérase 5' → 3' thermostable avec activité exonucléase 5' → 3'. L'enzyme ne présente aucune activité exonucléase 3' → 5' et insère les nucléotides (presque exclusivement l'adénosine) à l'extrémité 3' de l'ADN.

Usage prévu

La Happy Taq a été validée pour être utilisée avec toutes les trousse de marque HISTO TYPE (BAG Health Care GmbH). Le tampon de réaction PCR et la solution de MgCl₂ ne sont pas requis pour réaliser une PCR SSP avec les trousse HISTO TYPE classiques. La notice utilisateur des trousse HISTO TYPE contient des informations sur la procédure de test et des indications complémentaires. Il est possible d'utiliser la trousse Happy Taq pour d'autres tests IVD, mais l'utilisateur doit la valider pour cet usage.

Conservation et stabilité

La trousse Happy Taq est expédiée sur carboglace. Conserver tous les réactifs de la trousse Happy Taq à une température **≤ -20 °C** après réception. La date de péremption est indiquée sur l'étiquette de chaque réactif. Elle est également valable une fois les réactifs ouverts. La date de péremption indiquée sur l'étiquette externe correspond au réactif ayant la validité la plus courte dans la trousse.

Conditions de sécurité et remarques spécifiques

La trousse Happy Taq doit être utilisée uniquement par du personnel bien formé. Tous les produits biologiques doivent être manipulés comme des substances potentiellement infectieuses. Il est recommandé de respecter les précautions de sécurité adaptées pour manipuler les produits biologiques (ne pas pipeter à la bouche, utiliser des gants jetables pour manipuler les produits biologiques et pour réaliser le test, se désinfecter les mains une fois le test terminé). En cas de contact avec la peau, les muqueuses ou les yeux, laver immédiatement les régions affectées à l'eau ou les rincer avec une solution de lavage oculaire spécifique.

Distribué en Belgique, en France et au Luxembourg par :

médiane diagnostics Z.A. de la Chaîne 78370 PLAISIR +33 1.30.07.50.60 info@mediane-diag.fr

Les produits biologiques doivent être inactivés avant leur élimination (p.ex. : dans un autoclave). Les produits jetables doivent être autoclavés ou incinérés après usage. Un renversement de produits potentiellement infectieux doit être ramassé immédiatement avec du papier absorbant, et les zones contaminées doivent être nettoyées avec un désinfectant standard adapté ou avec de l'alcool à 70 %. Les matériels utilisés pour nettoyer les renversements, y compris les gants, doivent être inactivés avant leur élimination (p.ex. : dans un autoclave). L'élimination de tous les échantillons et des produits du test doit respecter les directives en vigueur.

La PCR est un procédé particulièrement sensible, et des conditions spécifiques de sécurité doivent être respectées pour éviter la contamination et donc les fausses réactions.

- ◆ Porter des gants pour manipuler (sans poudre si possible).
- ◆ Utiliser de nouveaux embouts à chaque étape de pipetage (avec un filtre intégré).
- ◆ Utiliser des zones de travail séparées pour les tâches avant l'amplification (isolement de l'ADN et préparation des réactions) et après l'amplification (électrophorèse sur gel, documentation). De préférence, utiliser deux pièces différentes.
- ◆ Utiliser les dispositifs et autres matériels uniquement à leur place respective et ne pas les échanger.

Protocole PCR

Le protocole PCR qui suit est présenté uniquement à titre indicatif. Pour obtenir une amplification parfaite de la matrice d'ADN, les conditions de test doivent être ajustées et optimisées pour le thermocycleur utilisé.










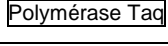
Centrifuger chaque flacon de réactif avant utilisation. Il est recommandé de placer les tubes PCR, obligatoirement exempts de nucléase, sur de la glace avant transfert sur thermocycleur.

| Volume final | Eau distillée (stérile, exempte de nucléase) | Tampon de réaction 10x | MgCl ₂ (50 mM) | dNTP (10 mM) | Amorce sens (10 µM) | Amorce anti-sens (10 µM) | Matrice ADN (> 1 µg) | Happy Taq (5 U/µl) |
|--------------|--|------------------------|---------------------------|--------------|---------------------|--------------------------|----------------------|--------------------|
| 25 µl | Variable | 2,5 µl | 0,75 µl | 0,5 µl | 0,5 µl | 0,5 µl | variable | 0,15 µl |
| 50 µl | Variable | 5,0 µl | 1,5 µl | 1,0 µl | 1,0 µl | 1,0 µl | variable | 0,3 µl |

Programmer le thermocycleur selon les spécifications du fabricant.

| Étape de programme | Température | Heure | Nb de cycles |
|-----------------------|-----------------------|-------------|----------------|
| Première dénaturation | 95-96 °C | 2 minutes | 1 cycle |
| Dénaturation | 95 °C | 30 secondes | 25 – 35 cycles |
| Hybridation | 58 °C (50 °C – 68 °C) | 30 secondes | |
| Extension | 72 °C | 30 secondes | |
| Extension finale | 72 °C | 10 minutes | 1 cycle |

N.B.: pour les amplicons de **plus de 2 kb**, il est recommandé d'augmenter la durée de l'extension (1 min pour 1 kb).

| Explication des symboles utilisés sur les emballages | | | |
|---|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
|  | Température de conservation |  | Solution de Chlorure de magnésium |
|  | Utiliser avant |  | Tampon de réaction, concentré 10x |
|  | Consulter la Notice utilisateur |  | Code produit |
|  | Pour usage de diagnostic in vitro |  | Prêt à l'emploi |
|  | N° de lot |  | Taq polymérase |